

Clostridios: No siempre malos bichos

Los clostridios son asombrosos. La toxina D de *Clostridium botulinum* (latín *botulus*, salchicha; *botulinum*, de las salchichas) es un millón de veces más poderosa que la estricnina. Tan poderosa y ahora un agente cosmético. La toxina del *C. tetani* (latín, del griego *tetanos*, tensión) es apenas quinientas mil veces más poderosa que la estricnina¹. Era difícil *C. difficile* por “la inusual dificultad que se encontró en su aislamiento y estudio”². Ahora es un patógeno que aprovecha las oportunidades ofrecidas por los tratamientos con antibióticos. También las aprovecha *C. sordelli* que recuerda a quien lo descubrió en 1922, Alfredo Sordelli (1891-1967), químico y bacteriólogo argentino. El *C. acetobutylicum* (del latín *acetum*, vinagre, y *butylicum* de *butyrum*, manteca, del griego *boutyron*), se llama asimismo “Organismo Weizmann”, por Chaim Weizmann (1874-1952) quien, en los laboratorios del Almirantazgo británico, durante la Primera Guerra Mundial, descubrió un método que fermenta almidón con *C. acetobutylicum* y produce acetona, butanol y etanol. La acetona era esencial para elaborar pólvora y TNT (trinitrotolueno). El método sirve también para fabricar caucho sintético. Ahora se usa para producir *BioButanol*TM, un prometedor sustituto de los combustibles fósiles³.

Los clostridios (del griego *klōstēr*; del latín *clostridium*, huso pequeño; plural *clostridia*) son un género numeroso de bacterias: 88 especies, cuenta la edición del Bergey que consultamos. La mayoría son anaerobios obligados, y son ubicuos. Crecen en el suelo, las cloacas, sedimentos marinos, vegetación en descomposición, productos de animales y vegetales, el tracto gastrointestinal del hombre, otros vertebrados e insectos². La mayoría de las especies que viven en el hombre son comensales inofensivos que pueden convertirse en patógenos oportunistas.

Cepas de *C. perfringens* (del latín *perfringo*, romper en pedazos, desintegrar), *C. welchii* para otros, por William Welch (1850-1934), patólogo norteamericano, producen la mionecrosis clostridial (gangrena) y pueden ser entero-tóxicas. Una cepa termo-resistente (resistente a la cocción) de *C. perfringens* tipo A produce diarrea, en general ni grave ni complicada. Pero cuando la cepa es tipo C, y se dan las condiciones adecuadas, produce una grave enfermedad: la enteritis necrotizante o *enteritis necroticans* (latín), *darmbrand* (alemán, “fuego intestinal”). La enfermedad se describió originalmente en Alemania del Norte y Escandinavia después de la Segunda Guerra Mundial. Consiste en necrosis en parches de la mucosa del yeyuno, que puede extenderse a todas las capas del intestino y el peritoneo y que, cuando cura, deja cicatrices. Los brotes afectaron a cientos, en general adultos de edad mediana o viejos, mal nutridos, después de una brusca comilona de cerdo. En pocos años la enfermedad declinó y desapareció⁴.

En 1961 una epidemia de una enfermedad similar se conoció en las tierras altas de Nueva Guinea, se llamó *pig-bel* (*pidgin english*, “vientre de cerdo”). Seguía a un festín tras las cíclicas matanzas rituales de cerdos, afectaba más a los niños que a los adultos y el agente causal era el mismo que en el norte de la Europa de post-guerra y en esporádicos brotes ocurridos en otros lugares. Lawrence y Walker, en 1976, en un artículo corto, calificado como hipótesis pero sostenido por pruebas y razonamientos impecables, aclararon la patogenia. Transcribimos: “Creemos que la combinación de una dieta baja en proteínas, con baja actividad tripsínica del páncreas, más el continuo consumo de batatas [*Ipomea batatas*] con inhibidores de la tripsina, conduce a una proteólisis inadecuada [las enzimas proteolíticas destruyen

la toxina del clostridio] cuando se consume una comida con *C. welchii* C y su toxina B [beta]"⁵. Años después, Lawrence y colaboradores publicaron los resultados conseguidos por la inmunización activa con un toxoide preparado de un cultivo de *C. welchii* tipo C para prevenir el *pig-bel*, una causa mayor de enfermedad y muerte entre los niños de la región⁶. La vacuna tuvo éxito y es ahora parte de la rutina de los programas de inmunización⁷. El *pig bel* se convirtió en rareza en las tierras altas de Papuasias Nueva Guinea.

Ahora, si se dan las circunstancias patogénicas enumeradas por Lawrence y Walker, el *pig-bel* ocurre en países pobres o ricos. Ejemplos de los ricos: en Holanda en un hombre diabético⁸; en New Haven, Connecticut, en una mujer diabética⁹; en Atlanta, Georgia, en un niño diabético¹⁰, y en un vegetariano de Oxford (cita 15 de referencia 10, fuente útil de ejemplos). El *pig-bel* ha dado lugar a una arriesgada hipótesis histórico-médica-literaria: que una desgracia ocurrida durante la colonización de América del Norte, tal vez debida al *pig-bel*, podría haber inspirado a Shakespeare a escribir "La Tempestad"¹¹. La hipótesis fue reprobada por Paul Groussac en 1904¹².

Los clostridios saprofitos son muchos más que los patógenos ¿Podríamos aprovecharlos, además de contribuir a producir explosivos o combustibles, para tratar los tumores? A algunos curiosos se les ocurrió averiguarlo. Veamos por qué y cómo. Seguimos la revisión de Minton¹³.

Los clostridios sólo crecen en ambientes hipóxicos, son todos anaerobios en variable grado. Los tumores sólidos de más de 3 mm de diámetro están mal irrigados, son tejidos hipóxicos. Hace ya mucho tiempo se probó que luego de la inyección de esporas de *C. histolyticum* (lisis de tejidos) y de *C. tetani* estas se transforman en formas vegetativas sólo en los hipóxicos tejidos de un tumor. Si se inyecta *C. histolyticum*, el resultado es la lisis del tumor (se llamó oncolisis clostridial), y, si se inyecta *C. tetani*, el resultado es el tétanos generalizado. La oncolisis clostridial se ha experimentado en animales, incluido el hombre, sola o en combinación con otros antitumorales. Una cepa, bautizada *C. oncolyticum* (lisis de tumores), probada en los propios experimentadores, es benigna, no actúa sino sobre los tumores. Pero, en estos experimentos siempre quedaba viable la parte periférica del tumor, mejor oxigenada, de allí crecía de nuevo. La técnica que se propone ahora es más compleja. Consiste en usar los clostridios como portadores de una enzima, que se les agregó por ingeniería genética y que transforma una pro-droga inocua en una droga anti-neoplásica activa. La terapia se denomina *Clostridial-directed enzyme-prodrug therapy (CDEPT)*, Terapia con Enzima Pro-droga Dirigida por Clostridios (TEPDC). El método, como se figurarán los lectores, es mucho más complejo y laborioso que la siguiente síntesis. Las etapas son: insertar en las células de un clostridio un plásmido recombinante con el gen que codifica la enzima que transforma una pro-droga en una droga citotóxica. Se han usado cepas de clostridios sacarolíticos (nuestro conocido *C. acetobutylicum*, y *C. beijerinckii*, por M.W. Beijerinck, microbiólogo holandés[1851-1931]) y proteolíticos (*C. sporogenes*, generador de esporas, y *C. novyi*, por F.G. Novy, bacteriólogo estadounidense). Se preparan esporas de los clostridios recombinantes y se inyectan por vía endovenosa al animal con el tumor; las esporas germinarán sólo en el ambiente hipóxico del tumor. Se puede aumentar la colonización y la cantidad de células vegetativas en el tumor inyectando, después de las esporas, una droga que destruya los vasos, combretastatina, por ejemplo. Después de una buena colonización se inyecta la pro-droga, por ejemplo: 5-fluorocitosina, si el gen que se ha insertado en el clostridio inyectado codifica la enzima citosina deaminasa que transforma la pro-droga en 5-fluoruracilo citotóxico que causa la lisis del tumor. Si es necesario eliminar los clostridios en cualquier etapa del procedimiento, se utiliza el antibiótico metronidazol.

Las dudas persisten y asustan. Cuesta aceptar la idea de infectar a un individuo con clostridios, otras bacterias o, con el mismo propósito benéfico, virus modificados¹⁴. Con el gen que transforma la pro-droga ¿se puede haber insertado otro gen que lo haga patógeno en una forma desconocida, o el gen que lo haga resistente a los antibióticos? ¿Nos pasará lo que al aprendiz de hechicero?

Pero los ingeniosos no descansan. Nos enteramos de experimentos que utilizan como repartidoras de las drogas a "nano-células" en lugar de bacterias¹⁵. Las "nano-células" están constituidas por una cubierta externa de lípidos y un núcleo de un polímero biodegradable, son preferentemente captadas por el tumor (los vasos de los tumores están mal hechos, "pierden"), y liberan, primero, una droga disuelta en la cubierta externa, que destruye los vasos del tumor (combretastatina), y luego, está unido al núcleo del polímero, el quimioterápico (doxorubina)¹⁶. Pero esto es harina de otro costal.

Nos preguntamos si estos intentos terapéuticos llegaran a la práctica y serán efectivos. Son intentos racionales y complejos. Más simples, baratas, y menos trabajosas son las terapias alternativas. "No comportan riesgo alguno para la salud de los pacientes", dicen quienes las practican. Ciertamente no comportan riesgo alguno para la salud de los tumores, y producen resultados brillantes para sus enriquecidos distribuidores.

Juan Antonio Barcat

jabarcat@topmail.com.ar

1. van Heiningen, WE. En: Lord Florey. General Pathology. 4th. Edition. Philadelphia: Saunders, 1970. Chapter 30, p 979-97.
2. Cato EP, George WL, Finegold SM. Clostridium Genus. En: Sneath PHA, Mair NS, Sharpe NE, Holt JG. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986. Vol. 2, Section 13, p 1141-200.
3. Clostridium acetobutylicum. http://en.wikipedia.org/wiki/Clostridium_acetobutylicum; consultado el 16-1-06. Ver también www.butanol.com; consultado el 16-1-06.4.
4. Spencer, H. Tropical Pathology. New York: Springer, 1973. Chapter 1, p17-9.
5. Lawrence G, Walker PD. Pathogenesis of enteritis necroticans in Papua New Guinea. *Lancet* 1976; 1: 125-6.
6. Lawrence G, Shann F. Prevention of necrotising enteritis in Papua New Guinea by active immunisation. *Lancet* 1979; 1: 227-30.
7. Lawrence GW, Lehmann D, Anian G, et al. Impact of active immunisation against enteritis necroticans in Papua New Guinea. *Lancet* 1990; 336:1165-7). (Ver también: http://www.pngimr.org.pg/enteric_diseases.htm; consultado el 30-12-05).
8. Severin WPJ, de la Fuente AA, Stringer MF. *Clostridium perfringens* type C causing necrotising enteritis. *J Clin Pathol* 1984; 37: 942-4.
9. Nuland SB. The Beast in the Belly. A surgeon's tale of microbes, medicine, and unreasonable faith, of New Guinea and New Haven and a young woman on the edge of a mysterious death. *Discover Magazine*. February 1995.
10. Petrillo TM, Beck Sagué CM, Songer G, et al. Enteritis necroticans (Pigbel) in a diabetic child. *New Eng J Med* 2000; 342: 1250-3.
11. Puntis, J. Pig-bel (Necrotizing Enteritis) in the Americas? *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002; 34: 323.
12. Groussac P. El viaje intelectual. Primera serie (1904). Buenos Aires: Simurg, 2005. La Tempestad (nota 2), p 253-64.
13. Minton NP. Clostridia in cancer therapy. *Nat Rev Microbiol* 2003; 1: 237-42.
14. Chernajovsky Y, Layward L, Lemoine N. Fighting cancer with oncolytic viruses. *Br Med J* 2006; 332: 170-1.
15. Mooney D. One step at a time. *Nature* 2005; 436: 468-9.
16. Sengupta S, Eavarone D, Capila I, Zhao G, et al. Temporal targeting of tumour cells and neovasculature with a nanoscale delivery system. *Nature* 2005; 436: 568-72.

Al ruso Pipkin y al judío Levy,
al lusitano Pintos, a Goñi el español,
y al que esto escribe, hijo audaz de Buenos Aires,
vednos en fraternal conversación.
Máscara de oro nos ha puesto a todos,
sobre la misma tierra, el mismo Sol.

Baldomero Fernández Moreno (1886-1950)

Las cien mejores poesías de Fernández Moreno. Selección y prólogo de César Fernández Moreno.

Buenos Aires: Eudeba, 1961, p 36-7